

AVALIAÇÃO DO FENÓTIPO DEPRESSIVO DO MODELO DE SEPARAÇÃO MATERNA PARA INDUÇÃO DE DEPRESSÃO PÓS-PARTO EM RATAS LACTANTES: ESTUDO PILOTO

Emily Yashima Penna

Gabriel Ramos de Abreu

Julia Zaccarelli Magalhães

Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia/Universidade de São Paulo

eypenna@gmail.com

Objetivos

A depressão pós-parto é uma doença mental incapacitante, de caráter multifatorial, que atinge uma em cada sete mulheres pelo mundo¹. Apesar disso, ela ainda é comumente subdiagnosticada e pouco estudada². Modelos animais vem sendo cada vez mais utilizados em estudos sobre essa doença, uma vez que se assemelham aos efeitos causados em seres humanos³. Assim, o objetivo deste trabalho foi avaliar o fenótipo depressivo causado pelo modelo de separação materna para indução de depressão pós-parto em ratas lactantes. Para isso foi realizado o acompanhamento do ganho de peso corpóreo, assim como o consumo de água e de ração, e foi avaliado o comportamento tipo-depressivo através do *splash test* e do nado forçado.

Métodos e Procedimentos

Foram utilizadas 12 ratas Wistar lactantes, provenientes do biotério do Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo. Os animais foram alojados em gaiolas de polipropileno (41 X 34 X 18 cm) contendo maravalha, em uma sala com ciclo claro e escuro com duração de doze horas (luz acende as 6h), com umidade relativa de 55% e temperatura a 22°C. Esses animais tiveram

comida e água *ad libitum*, porém foram mensurados diariamente durante todo o período experimental para a análise de seu consumo.

As ratas foram divididas em dois grupos: controle e separação materna, que foram submetidas ao modelo de separação materna do dia de lactação (DL) 2 ao 12, como descrito por Vetulani, 2013⁴. Para isso, os filhotes foram retirados da gaiola moradia das mães e colocados em caixas plásticas contendo maravalha sob uma manta aquecida por 3h diárias.

O *splash test* foi realizado no DL2 e no DL12. Nesse teste foi borrida uma solução de sacarose a 10% na região dorsal do animal a ser avaliado e este foi colocado em uma caixa de vidro⁵. Seu comportamento foi observado por 10 minutos e foi avaliado o tempo total em segundo de *grooming* (autolimpeza).

O nado forçado foi realizado no DL12. Cada rata foi colocada em uma cuba de acrílico (45 cm de altura X 30 cm de diâmetro) cheia de água a 25°C por 5 minutos⁶, nos quais seu comportamento foi observado. Foi avaliado o tempo total em segundo de imobilidade e de atividade do animal.

A análise estatística foi realizada com auxílio do software GraphPad Prism 6[®]. O teste de Bartlett foi utilizado para a verificação da homocedasticidade dos dados. Foram utilizados o teste t e a ANOVA de duas vias, seguida do pós-teste de Sidak (apenas para o

splash test). O nível de significância para todas as análises será considerado $p<0,05$.

Resultados

A Figura 1 mostra os resultados do ganho de peso corpóreo e do consumo de água e de ração. O teste t não mostrou diferenças significantes entre os grupos em nenhuma das análises: ganho de peso ($p=0,7424$), consumo de água ($p=0,8710$) e consumo de ração ($p=0,6995$).

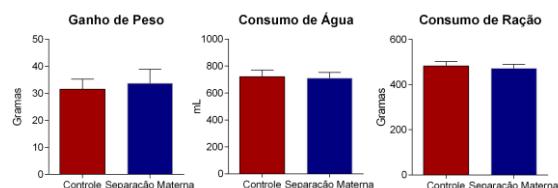


Figura 1: Gráficos do ganho de peso corpóreo e do consumo de água e de ração. São apresentados as médias e os respectivos erros padrão. N=6 animais por grupo.

A Figura 2 mostra os resultados dos testes comportamentais, *splash test* e nado forçado (tempo de imobilidade e atividade). Em relação ao *splash test*, a ANOVA de duas vias com medidas repetidas não apontou diferenças significantes entre os grupos em relação ao tratamento ($F(1,9)=0,3853$, $p>0,05$) e ao tempo ($F(1,9)=0,03515$, $p>0,05$), sem interação entre os fatores ($F(1,9)=0,001336$, $p>0,05$). Em relação ao nado forçado, o teste t não apontou diferenças significantes em nenhum dos parâmetros avaliados: imobilidade ($p=0,5436$) e atividade ($p=0,5436$).

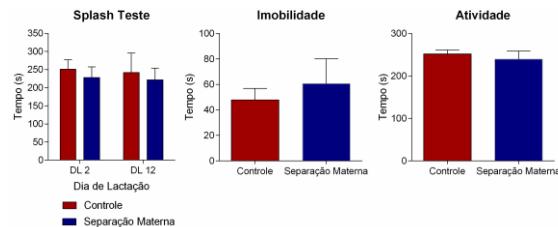


Figura 2: Gráficos do *splash test* e do nado forçado. São apresentados as médias e os respectivos erros padrão. N=6 animais por grupo.

Conclusões

Os nossos resultados mostraram que não houve diferença significante entre os grupos em nenhuma das avaliações realizadas. Entretanto, há uma tendência das ratas submetidas ao modelo de separação materna de fazerem *grooming* por menos tempo no DL12 no *splash test* e de ficarem mais tempo imóveis no nado forçado. Isso sugere um fenótipo depressivo dessas ratas, porém são necessários mais estudos com um número maior de animais para confirmar esses achados.

Referências Bibliográficas

- ¹FRIEDMAN, S.H.; RESNICK, P.J. Postpartum depression: an update. **Women's Health**, v.5, n.3, p.287–295, 2009.
- ²PAYNE, J.L.; MAGUIRE, J. Pathophysiological mechanisms implicated in postpartum depression. **Frontiers in Neuroendocrinology**, v.52, p.165-180, 2019.
- ³MAGALHÃES, J.Z. **Estudos comportamentais e neurofisiológicos da exposição prolongada à cetamina como antidepressivo e o modelo de separação materna para indução de depressão pós-parto em ratos**. 2021. 247f. Tese (Doutorado em Ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo.
- ⁴VETULANI, J. Early maternal separation: a rodent model of depression on a prevailing human condition. **Pharmacological Reports**, v.65, n.6, p.1451-1461, 2013.
- ⁵SMOLINSKY, A.N.; BERGNER, C.L.; LAPORTE, J.L.; KALUEFF, A.V. Analysis of grooming behavior and its utility in studying animal stress, anxiety, and depression In: **Mood and anxiety related phenotypes in mice**. Humana Press, Totowa, NJ, p.21-36. 2009.
- ⁶ENGIN, E.; TREIT, D.; DICKSON, C.T. Anxiolytic- and antidepressant-like properties of ketamine in behavioral and neurophysiological animal models. **Neuroscience**, v.161, n.2, p.359-369, 2009.

EVALUATION OF THE DEPRESSIVE PHENOTYPE BY THE MATERNAL SEPARATION MODEL TO INDUCE POSTPARTUM DEPRESSION IN LACTATING RATS: PILOT STUDY

Emily Yashima Penna

Gabriel Ramos de Abreu

Julia Zaccarelli Magalhães

School of Veterinary Medicine and Animal Science/University of São Paulo

eypenna@gmail.com

Objectives

Postpartum depression is a mentally disabling disease of a multifactorial character, which affects one in seven women worldwide¹. Nevertheless, it is still commonly underdiagnosed and understudied². Animal models have been increasingly used in studies on this disease, as they mimic the effects caused in humans³. Thus, the aim of this study was to evaluate the depressive phenotype caused by the maternal separation model to induce postpartum depression in lactating rats. Therefore, body weight gain was monitored, as well as water and food intake, and depressive-like behavior was evaluated through the splash test and the forced swim test.

Materials and Methods

Twelve lactating Wistar rats from the vivarium of the Institute of Biomedical Sciences of the University of São Paulo were used. The animals were housed in polypropylene cages (41 X 34 X 18 cm) containing wood shavings, in a room with a light and dark cycle lasting twelve hours (lights on at 6:00 am), with a relative humidity of 55% and temperature at 22°C. These animals had food and water *ad libitum* but were measured daily throughout the experimental period to analyze their intake.

Rats were divided into two groups: control and maternal separation, which were submitted to the model of maternal separation model from lactation day (LD) 2 to 12, as described by Vetulani, 2013⁴. Thus, the offspring was removed from the mother's home cage and placed in small plastic boxes containing wood shavings over a heated blanket for 3 hours daily.

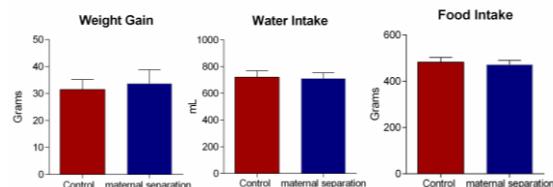
The splash test was performed on the LD2 and LD12. For this test a 10% sucrose solution was sprayed on the dorsal region of each animal, which were then placed in a glass box for behavioral evaluation⁵. Its behavior was observed for 10 minutes and the total time in seconds of grooming (self-cleaning) was evaluated.

The forced swim test was performed on the LD12. Each rat was placed in an acrylic tub (45 cm high X 30 cm diameter) filled with water at 25°C for 5 minutes⁶, during which their behavior was observed. The total time in seconds of immobility and activity of each rat was evaluated.

Statistical analysis was performed using the GraphPad Prism 6® software. The Bartlett test was used to verify the homoscedasticity of the data. The t-test and the two-way ANOVA with repeated measures followed by the Sidak post-test (only for the splash test), were used. The level of significance for all analyzes was considered $p<0.05$.

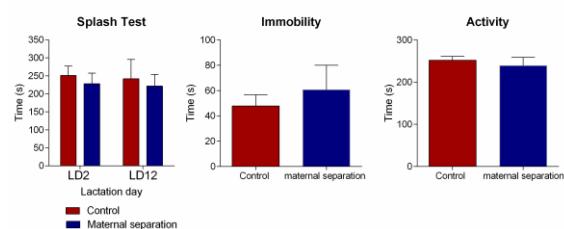
Results

The picture 1 shows the results of body weight gain and water and food intake. The t test did not show significant differences between groups in any of the analyses: weight gain ($p=0.7424$), water intake ($p=0.8710$) and food intake ($p=0.6995$).



Picture 1: Graphs of body weight gain and water and feed intake. Means and their standard errors are shown. N=6 animals per group.

The picture 2 shows the results of the behavioral evaluation: the splash test, the time of immobility and activity in the forced swim test. Regarding the splash test, the two-way ANOVA with repeated measures did not show significant differences between the groups regarding treatment ($F(1,9)=0.3853$, $p>0.05$) and time ($F(1,9)=0.03515$, $p>0.05$), with no interaction between the factors ($F(1,9)=0.001336$, $p>0.05$). Regarding the forced swim, the t test did not show significant differences in any of the evaluated parameters: immobility ($p=0.5436$) and activity ($p=0.5436$).



Picture 2: Graphs of the splash test and forced swim. Means and their standard errors are shown. N=6 animals per group.

Conclusions

Our results showed that there was no significant difference between the groups in any of the assessments performed. However, there

is a tendency of lactating rats submitted to the maternal separation model to exhibit grooming behavior for less time in the LD12 in the splash test and to remain immobile for a longer period of time in the forced swim test. This data suggests a depressive phenotype of these rats, but further studies with a larger number of animals are needed to confirm these findings.

References

- ¹FRIEDMAN, S.H.; RESNICK, P.J. Postpartum depression: an update. **Women's Health**, v.5, n.3, p.287–295, 2009.
- ²PAYNE, J.L.; MAGUIRE, J. Pathophysiological mechanisms implicated in postpartum depression. **Frontiers in Neuroendocrinology**, v.52, p.165-180, 2019.
- ³MAGALHÃES, J.Z. **Estudos comportamentais e neurofisiológicos da exposição prolongada à cetamina como antidepressivo e o modelo de separação materna para indução de depressão pós-parto em ratos**. 2021. 247f. Tese (Doutorado em Ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo.
- ⁴VETULANI, J. Early maternal separation: a rodent model of depression on a prevailing human condition. **Pharmacological Reports**, v.65, n.6, p.1451-1461, 2013.
- ⁵SMOLINSKY, A.N.; BERGNER, C.L.; LAPORTE, J.L.; KALUEFF, A.V. Analysis of grooming behavior and its utility in studying animal stress, anxiety, and depression In: **Mood and anxiety related phenotypes in mice**. Humana Press, Totowa, NJ, p.21-36. 2009.
- ⁶ENGIN, E.; TREIT, D.; DICKSON, C.T. Anxiolytic- and antidepressant-like properties of ketamine in behavioral and neurophysiological animal models. **Neuroscience**, v.161, n.2, p.359-369, 2009.